

■一般演題（ポスター）（P）

日時：9月6日（土）9:00～17:30

会場：ポスター会場（会議場1階 イベントホール）

一般演題（ポスター）（P2-01～55）

P2-01 「日本人中切歯における副根管の三次元的評価と発生頻度の検討」

笠原 典夫¹、松永 智²、塩崎 一成³、北村 啓¹、菊池 布恵¹、阿部 伸一²、
山本 仁¹（¹ 東歯大 組織発生、² 東歯大 解剖、³ 日大松戸歯 解剖）

【目的】本研究は、日本人中切歯における主根管の形態分類および副根管の発生頻度を明らかにし、根管治療時、あるいは根管治療後の根管再感染への関連性について、その一端を解明することを目的とした。

【試料および方法】試料は、東京歯科大学解剖学講座所蔵の日本人下顎中切歯50本、上顎中切歯50本である。試料をMicro-CTにて撮像し、その後三次元立体構築を行い、Vertucciの分類に基づいて形態を分類した。さらに、副根管の有無とその発生部位を解析し、それぞれの発生頻度を算出した。

【結果および考察】下顎中切歯では完全な1根管であ

るType Iが85.7%、次いで1根管-2根管-1根管であるType IIIが10.5%であり、舌側根管を有するType IVおよびVIIも僅かながら認められた。副根管の発生率は36.7%であり、過去の報告よりも高頻度であった。一方、上顎中切歯では全例がType Iであったが、副根管の発生率は66.9%と下顎中切歯に比べて高く、1歯に複数の副根管を有する例も認めた。これらの結果から、中切歯の歯髓腔は一見単純に見えても複雑な形態を呈しており、これらの形態が根管治療の成否を左右している可能性が示唆された。

P2-02 「肥満2型糖尿病モデルラットにおける下顎第一臼歯舌側歯肉の形態学的研究」

平山 和幸¹、角 陽一¹、上村 守¹（¹ 大歯大 解剖）

肥満は2型糖尿病の主要な危険因子であり、また2型糖尿病と歯周病の間には双方向性の関連が認められると報告されている。本研究では、肥満2型糖尿病（ODM）モデルの下顎第一臼歯舌側歯肉の粘膜上皮、上皮下結合組織および毛細血管の形態学的差異を正常群と比較した。ODM群として生後8週齢雄性SDT fattyラット12匹（体重：約309g、空腹時血糖値：約148mg/dL、HbA1c：約5.5%）、正常群として同週齢・同性SDラット12匹（体重：約232g、空腹時血糖値：約73mg/dL、HbA1c：約3.7%）を用いて、粘膜上皮、上皮下結合組織および毛細血管について比較した。粘膜上皮では、特に歯肉上部の角質層および顆粒層がODM群で有意に肥厚し、また歯肉最表層の上皮細胞の易剥離性が認められた。上皮下結

合組織では、ODM群では正常群と比較して膠原線維から成る稜線の形態学的差異が観察された。また、ODM群が正常群より上皮下結合組織の断面積、結合組織乳頭の断面積および高さが有意に減少していた。毛細血管では、ODM群が正常群より直径が有意に小さく、また毛細血管網が不均一な網目状構造を呈していた。以上から、ODM環境において、歯肉の異常角化や易剥離性、結合組織の退行性変化、そして毛細血管において細小血管障害が引き起こされることが示唆された。本研究は、糖尿病および肥満が歯周組織の微細構造に及ぼす影響を形態学的に解明し、歯周病の進展機序に対する新たな視点を提供するものである。

P2-03 「エナメル質形成過程における TGF- β 誘導性 EMT/MET の可逆的制御」宮川 友里¹、唐木田 丈夫²、大熊 理紗子²、山本 竜司²、小林 冴子¹、山越 康雄²、朝田 芳信¹(¹ 鶴大 歯 小児歯、² 鶴大 歯 生化学)

TGF- β は体内のさまざまな細胞によって産生される生理活性物質の1つであり、哺乳類では3種類 (TGF- β 1、 β 2、 β 3) のアイソフォームが知られている。これまで我々は先行研究で、(1)エナメル質形成には活性型TGF- β が必要であること、(2)マウスエナメル上皮細胞株mHAT9d細胞に活性型TGF- β を添加すると上皮間葉転換(EMT)が生じること、(3)mHAT9d細胞のEMTはTGF- β アイソフォームごとに反応性が異なることを明らかにした。

【目的】TGF- β によって誘導されたmHAT9d細胞の形態変化と遺伝子発現の解析を通じて、エナメル質形成の機構および動態を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】mHAT9d細胞にTGF- β 1、 β 2、および β 3を添加して刺激し、EMTを誘導した。その後、(1) TGF- β

の添加を継続した群と(2) TGF- β の添加を中止して培養を続けた群に分け、両群の細胞形態の比較と遺伝子発現解析を行った。

【結果】EMTが生じた後にTGF- β の添加を中止すると、細胞形態は間葉系特有の突起状から上皮系特有の敷石状に変化したことから、間葉上皮転換(MET)が生じたと考えた。遺伝子発現解析の結果、TGF- β 1および β 3添加群では間葉系マーカーであるN-cadherinやVimentinの遺伝子発現の上昇が認められた。さらに、TGF- β の添加を中止すると、全群で間葉系マーカーの遺伝子発現が減少し、コントロール群と同レベルとなった。

【結論】mHAT9d細胞におけるEMT/METは可逆的な現象であることが示された。

P2-04 「ブタエナメル質形成過程におけるアルカリホスファターゼ活性の動態

Dynamics of alkaline phosphatase activity during porcine enamel formation」

小林 冴子¹、山本 竜司²、兒玉 羽矢³、大熊 理紗子²、濱仲 正士²、朝田 芳信¹、山越 康雄²(¹ 鶴大 歯 小児歯、² 鶴大 歯 生化学、³ 鶴大 歯 歯周病)

エナメル質形成において、アルカリホスファターゼ(ALP)は基質合成と初期石灰化の双方で重要な役割を担う酵素である。

【目的】ブタ形成期および成熟期エナメル質中のALPの動態を解明することを目的とした。

【方法】生後約5か月齢のブタ永久切歯エナメル器(EOE)を用い、各種タンパク分解酵素阻害剤存在下でインキュベーションを行い、遊離ALP活性およびALP関連遺伝子発現を評価した。さらに形成期および成熟期エナメル質から抽出した画分中のALP活性、ALP量、ピロリン酸および遊離無機リン酸を測定した。

【結果と考察】EOEのALP活性は時間依存的に上昇し、セリンプロテアーゼ阻害剤で抑制された。しかしながら、遊離したALP活性そのものは同阻害剤の影響を受

けなかったことより、EOEからのGPIアンカー型ALPの切断には、EOEに存在する何らかのセリンプロテアーゼが関与しているものの、基質中に存在するセリンプロテアーゼはALPの失活には関与しないことが示唆された。このセリンプロテアーゼとしては、定量PCRの結果より、トリプシン様セリンプロテアーゼ11dやセリン型エンドペプチダーゼ23の発現が高かった。次にエナメル質中のALP活性は形成期でやや高値を示したが成熟期との間で有意差はなかった。また、両期で結晶結合型ピロリン酸とALP作用後における遊離無機リン酸を検出した。

【結論】エナメル質形成過程においてALPは結晶形成に必要な無機リン酸を供給する重要な役割を担っている。

P2-05 「象牙芽細胞の cannabinoid 1 受容体活性化による細胞内 cAMP・Ca²⁺ 濃度動態」

Maki Kimura¹、Takehito Ouchi¹、Ryuya Kurashima¹、Yoshiyuki Shibukawa¹
(¹ 東歯大 生理)

象牙質表面に様々な刺激が加わると、象牙芽細胞膜が伸展することで機械感受性イオンチャネルが活性化され細胞内Ca²⁺シグナルが生じる。その細胞内Ca²⁺シグナルは象牙質形成や象牙質痛の発生に重要な役割を果たす。我々のこれまでの研究で、細胞内cyclic AMP (cAMP) が細胞内Ca²⁺シグナルを調節する可能性が示唆された。そこで、本研究では象牙芽細胞のcannabinoid受容体活性化で生じる細胞内cAMPシグナルと細胞内Ca²⁺シグナルを検討した。細胞はヒト培養象牙芽細胞を用いた。細胞内cAMPレベルはmNeon Green based cAMP sensor、細胞内遊離Ca²⁺濃度はfura2-AMを用いて計測

した。細胞外Ca²⁺存在下で、非選択的cannabinoid受容体アゴニストの2-arachidonoylglycerol (2-AG) の投与は細胞内cAMPレベルを増加した。その増加は、アデニル酸シクラーゼ阻害薬または選択的cannabinoid 1受容体阻害薬の投与で抑制された。加えて、細胞外Ca²⁺存在下での2-AGの投与は細胞内遊離Ca²⁺濃度を増加した。これらの結果から、象牙芽細胞にG_sタンパク質共役型受容体であるcannabinoid 1受容体が発現しており、cannabinoid 1受容体の活性化は細胞内遊離Ca²⁺濃度を増加することが示唆された。

P2-06 「DSPP 欠損マウスを用いた修復象牙質形成における象牙芽細胞の役割」

松山 加乃¹、磯野 加奈¹、山崎 英俊¹
(¹ 三重大 院医 幹細胞発生)

我々は、象牙芽細胞をGFPで検出可能であり、Tamoxifen存在下でCreの発現を誘導できるDspp-GFP-mer-Cre-merマウスを用いて実験を行ってきた。

これまで、DSPPを産生可能なDspp-GFP/+マウスを用い、切削後の象牙芽細胞における活性をGFPによって評価した。切削24時間後GFP陽性の象牙芽細胞が消失し、14日後にGFP陽性の象牙芽細胞が再活性化することを報告した。Dspp-GFP/+ -mer-Cre-merマウスとジフテリア毒素 (DT) 受容体を発現できるRosa-DTRマウスを用いてTamo/DTにより象牙芽細胞死を誘導し、切削21日後にGFP輝度と修復象牙質量が減少することを報告した。

本年はDSPPの役割を明らかにするためにDSPPを産生できないDspp-GFP/GFPマウスを用いた。切削21日後Dspp-GFP/GFPマウスはDspp-GFP/+マウスに比べて有意にGFP輝度上昇を示した。GFP/+マウスでは切削部直下の象牙細管でNestinの発現が多くみられたがDspp-GFP/GFPマウスではあまり認められなかった。更にDSPPの欠損にも関わらず大量の修復象牙質形成が認められた。

現在、Dspp-GFP/GFP : Rosa-DTRマウスを用いて、DSPPを発現しない象牙芽細胞を欠損させることで修復象牙質形成及びその性質に影響があるかを検討中である。

P2-07 「象牙質形成過程における CD166 の局在」

渋井 徹¹、細矢 明宏²、高橋 昌巳¹、柴田 俊一¹、入江 一元¹
(¹ 北医療大 歯 解剖、² 北医療大 歯 組織)

【目的】歯の形態形成はBMPsおよびWntsなどの成長因子、RunxやOsterix (OSX) をはじめとする転写調節因子などが関与する。しかし象牙芽細胞分化に関連する遺伝子についてはどの分子が重要であるかは不明である。CD166は間葉系幹細胞に発現が認められるタンパク質である。本研究では、象牙質形成過程におけるCD166の局在を検討した。

【材料と方法】Wistar系ラット臼歯の発生過程をCD166、Osterix (OSX) ならびにOsteopontin (OPN) の局在を

免疫組織化学的に検討した。

【結果】歯冠形成期（出生後2、7、10日）では、歯冠象牙質の形成が進行する領域の前象牙芽細胞でOSXの免疫反応が多数観察されたが、発達した象牙芽細胞ではOSXの免疫反応は弱まった。一方CD166の免疫反応は厚い象牙質に接する発達した象牙芽細胞で認められた。またOPN陽性の骨ではOSX陽性細胞が観察された。歯根形成期（出生後14、28、35日）になると、初期歯根形成領域でOSX陽性細胞とCD166陽性細胞が強く観察

された。歯根が伸長した時期（出生後28, 35日）でも、根尖側の象牙芽細胞でOSXとCD166の免疫反応が観察された。OPN陽性のセメント質と骨ではOSX陽性細胞が観察されたが、CD166の免疫反応は認められなかった。

【結論】以上よりCD166は歯冠形成期では成熟象牙芽細胞の機能調節に関与し、歯根形成期では象牙芽細胞の分化調節に関わることが示唆された。
(COI：なし)

P2-08 「Histological changes in dental pulp of mature teeth after extra-oral subcutaneous transplantation from mice treated with NLRP3 inflammasome inhibitor MCC950」

Jorge Luis Montenegro Raudales¹、Masaki Honda¹
(¹ Aichi-Gakuin Univ Sch Dent)

We have shown that after extra-oral subcutaneous transplantation of mouse molars, host cells differentiated into odontoblasts in immature donor molars but not in mature molars. The NLRP3 inflammasome (NLRP3) may hinder vascularization by suppressing autophagy. Thus, we aimed to study the effect of NLRP3 inhibition in odontoblast differentiation/survival of mature teeth with this model. Both donor wild type and recipient green fluorescent protein (GFP) mice received 40 mg/kg of the NLRP3 inhibitor, MCC950, for 1 week (MCC950 group) or were left untreated (control group). Then, mature molars were

transplanted into the dorsum of GFP mice and continued to receive MCC950 for 5 weeks or were left untreated. H&E staining and immunostaining with nestin (odontoblast marker) and GFP antibodies were used for histological analyses. H&E-staining showed that the dental pulp in both groups consisted of a matrix with cells, vessel-like structures, and hard tissue which was more prominent in the control group than in the MCC950 group. Also, nestin immunoreactivity was greater in the MCC950 group, with few GFP co-expressing cells. This suggests that NLRP3 inhibition maintains odontoblast survival.

P2-09 「Tet-off システムを用いた細胞増殖制御可能な無限分裂ヒト歯髄幹細胞の樹立と特性評価」

折本 愛¹、中富 千尋²、有吉 渉³、小野 堅太郎²、北村 知昭¹
(¹ 九歯大 保存、² 九歯大 生理、³ 九歯大 感染分子生物)

歯髄幹細胞は多様な組織への分化能を有し、細胞治療用細胞源として注目されている。歯髄幹細胞研究では、初代細胞が用いられることが多いが、ロット間差が大きく基礎研究には不向きである。これまでに、変異型CDK4、サイクリンD、TERTを導入するK4DT法により無限分裂可能なヒト歯髄幹細胞（hDPSC-K4DT）を樹立したが、K4D遺伝子発現が長期分化誘導実験には適さない課題があった。本研究では、ドキシサイクリン（DOX）によりK4D遺伝子の発現を可逆的に制御できる無限分裂歯髄幹細胞（Tet-off K4DT）を樹立し、その特性をhDPSC-K4DTと比較した。変異型CDK4、サイクリンD1、EGFPを2Aペプチドで連結し、Tet-off システム搭載のトリプル遺伝子発現レトロウイルスベクター

を構築した。Lonzaのヒト歯髄幹細胞に、レトロウイルスを用いて変異型CDK4、サイクリンD、TERTの3遺伝子を導入し作製した。Tet-off K4DT細胞は、ウエスタンブロットにてK4D発現が確認され、DOX添加で時間依存的に発現低下した。連続継代培養により217日以上持続的な細胞分裂を示し、長期継代後も正常な染色体パターンを維持していた。FACS解析では、間葉系幹細胞マーカー（CD90、CD44）が陽性、造血系マーカー（CD34、CD45）が陰性であり、幹細胞性を維持していた。さらに骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞への分化能も示唆された。今後、歯髄幹細胞を用いた細胞治療の進展に貢献しうる無限分裂ヒト歯髄幹細胞が樹立できた。

P2-10 「 γ -D- グルタミル-メソ-ジアミノピメリン酸 (iE-DAP) 刺激ヒト歯髓由来線維芽細胞の tissue inhibitor of metalloproteinase-1 産生に対する RIP2 の影響」

Xianang Hou¹、井上 博¹、寒川 延子¹、合田 征司¹
(¹ 大歯大 生理)

【目的】ヒト歯髓由来線維芽細胞(hDPFs)で構成的に発現されるヌクレオチド結合オリゴマー化ドメイン 1 (NOD1) はD-グルタミル-メソ-ジアミノピメリン酸 (iE-DAP) を感知する。iE-DAPは、細菌の構成成分であり、NOD1 によって 微生物特異的分子として認識され自然免疫応答を惹起する。本研究では、iE-DAP刺激 hDPFs の TIMP-1 産生におけるRIP2の影響について検討した。本研究は、大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った(承認番号111300)。

【方法・結果】(1) iE-DAPで24時間刺激後、細胞増殖試薬WST-8と反応させ細胞増殖能を検討した。細胞増殖に対するiE-DAP刺激の影響は認められなかった。(2) iE-DAPで24時間刺激後、上清を濃縮してサンプルを作

成し、TIMP-1をウエスタンブロッティング (WB)にて確認した。iE-DAP刺激によりTIMP-1産生は増強した。(3) GSK583 (RIP2阻害剤)で30分前処理した後に(2)同様にWBにてTIMP-1 産生を確認した。TIMP-1産生の増強はGSK583 (RIP2阻害剤)により抑制された。(4) (3)同様に細胞をGSK583で前処理し、iE-DAPで10分刺激後にサンプルを作成し、WBにてERK1/2とJNKのリン酸化を検討した。ERK1/2 とJNKのリン酸化の抑制が確認された。

【考察】以上の結果から、iE-DAP刺激がhDPFsからのTIMP-1産生を増強する可能性が示唆された。また、その作用のメカニズムにはRIP2を介したERK1/2とJNKのリン酸化が関与している可能性が示唆された。

P2-11 「チタンに対する FDC-SP を応用した細胞接着性の評価」

城戸 勇磨¹、池崎 晶二郎²、新藤 美湖¹、高満 正宜²、大津 圭史²、加倉 加恵¹、原田 英光²
(¹ 福歯大 インプラント、² 岩医大 歯 発生生物)

インプラント喪失の主な原因の一つとして歯周病に類似したインプラント周囲炎が知られており、その予防と対策は極めて重要な課題である。天然歯では、接合上皮が直接エナメル質と強固に接着することで、細菌や有害刺激の侵入を防ぐ生物学的バリアとして機能している。一方で、インプラントの粘膜貫通部の周囲上皮は、接合上皮とは異なり、生物学的バリアによる防御機構を十分に有していないと考えられる。本研究では接合上皮が分泌するFollicular Dendritic Cell-Secreted Protein (FDC-SP) をインプラント粘膜貫通部と上皮細胞間との接着に応用することで、インプラ

ント周囲粘膜上皮のバリア機能の向上を目的とした。実験では、アパタイト及びチタン表面にFDC-SPを塗布し、マウス口腔粘膜上皮細胞 (mOE-T2) の初期付着と増殖に及ぼす影響、さらに細胞接着関連分子 (インテグリン等)、細胞増殖関連分子 (Ki-67)、細胞骨格 (アクチン、ケラチン等)、細胞成長因子 (TGF等) の発現を免疫染色とRT-qPCRで解析した。その結果、FDC-SPがアパタイトやチタンへの結合能を有すると同時にインプラント周囲粘膜上皮の接着性や増殖性を向上させて、バリア機能を向上させることに有用であることが示唆された。

P2-12 「肥満病態下での歯周病感染による血液脳関門バリア障害の解析」

大植 香菜¹、山脇 洋輔²、應原 久一³、吾郷 由希夫⁴
(¹ 広島大 病院 歯科麻酔科、² 第一薬科大 薬 薬物治療、³ 広大院医系科学 歯周、⁴ 広大院医系科学 細胞分子薬理)

【緒言】認知症は世界で最も罹患者数の多い神経疾患である。認知機能障害の発症メカニズムには脳内炎症の関与が指摘されているが、有効な予防・治療法は確立されていない。我々はこれまでに、肥満と歯周病の

共存により認知機能が障害されることを明らかにし、この障害に脳内ミクログリアの活性化が関与していることを見出した。本研究では、肥満病態下の歯周病感染が、血液脳関門機能へ与える影響を検討した。

【方法】C57BL/6J雄性マウスに12週齢から18週間高脂肪食を与え、食餌誘発性肥満モデルを作製した。その後、歯周病菌 (*Porphyromonas gingivalis*) を6週間臼歯部に塗布し肥満-歯周病複合モデルを確立した。血液脳関門のタイトジャンクション構成分子の発現解析をリアルタイムPCR法にて行った。さらに、血液脳関門の透過性を評価するために、エバンスブルー色素の静脈内投与を行った。

【結果】脳血液関門のバリア機能を担うタイトジャンク

ションタンパク質の遺伝子発現解析において、肥満-歯周病マウス群では海馬におけるZO-1およびOccludinのmRNA発現量が有意に低下していた。また、同群では脳実質へのエバンスブルー色素の漏出が観察された。

【結論】本研究により、肥満病態下での歯周病感染が脳血液関門の機能低下を引き起こす可能性が示唆された。本結果は、肥満と歯周病の共存が中枢神経系に悪影響を及ぼし、認知機能障害を惹起する一因となる可能性が示された。

P2-13 「ヒト初代歯根膜細胞におけるエピカテキンの抗炎症効果の検討」

佐野 朋美¹、兼松 隆¹

(¹ 九大 院歯 口腔機能分子)

歯周病の研究には、細胞株や動物モデルなどが用いられ、組織学的に歯周炎を模倣しているが、時間とコストがかかる。そこで、本研究は、リアルな微細構造と生物学的機能を再現し、ヒトの歯周組織の解剖学的小および機能的特性を備えた歯周組織オルガノイドの確立を目指し3次元(3D)細胞培養を行った。

ヒト初代歯根膜細胞(PDLs)は台北医学大学雙和醫院にて治療上抜歯が必要と判断し抜去した歯から採取した。PDLs、ヒト歯髄幹細胞(PDSCs)、ヒト骨芽細胞様細胞株(MG-63)を用い、3D培養を行った。培養には超低接着表面の細胞培養用ウェルプレートを用いた。培養細胞をDAPIおよびphalloidinで免疫蛍光染色し、組織学的特徴を観察した。また、細胞株やモデル

マウスで歯周病の抑制効果を示したエピカテキン(EC)で前処理したPDLsを*Porphyromonas gingivalis*由来LPSで刺激した際の炎症性サイトカイン発現を定量した。

3D培養された細胞は、平面で単層に細胞が増殖する2D培養とは対照的に、細胞同士のクラスターを形成や細胞自身による細胞外マトリックス形成が観察された。また、PDLsをLPS刺激した際に亢進したIL6、TNFα、IL1bおよびCCL19発現は、EC処理によって抑制された。

本研究は、台北医学大学口腔医学院の張維仁教授との共同研究として実施された。

P2-14 「ヒト歯根膜前駆細胞の骨およびセメント質分化誘導にはPiezo1の活性化が関与する」

河野 祐里^{1,2}、鍛冶屋 浩^{2,3}、前芝 宗尚^{2,4}、後藤 加寿子^{2,5}、藤田 亜美³

(¹ 福歯大 矯正、² 福歯大 口腔医学研究セ、³ 福歯大 細胞生理、⁴ 福歯大 有床義歯、⁵ 福医短大 歯科衛生)

【目的】ヒト歯根膜由来の多能性間葉系幹細胞のヒト歯根膜前駆細胞(hPDLPC)を用い、機械感受性イオンチャネルPiezo1の活性化による骨芽細胞またはセメント芽細胞への分化誘導に与える効果について解析することを目的とした。

【試料と方法】hPDLPCを4つの条件で0～24時間培養し細胞を回収した:1. コントロール2. Piezo1活性剤のYoda1投与 3. シリコンチャンバーで培養した細胞に伸展圧縮装置による持続的な伸展4. シリコンチャンバーで培養した細胞に伸展圧縮装置による持続的な伸展にPiezo1阻害剤Dooku1投与。これらの条件での目的分子の発現変化を定量性RT-qPCR法、WB法で評価した。またPiezo1 KO細胞を作成し同様の評価を行った。

【結果と考察】hPDLPCはPiezo1とPiezo2を発現し、Yoda1投与によりCa²⁺が流入した。同時に、Ca²⁺/CREB伝達経路を介して骨芽細胞とセメント芽細胞分化関連分子の発現を有意に促進した。一方、伸展刺激に対しては、主に骨芽細胞関連分子の発現を促進したが、Dooku1存在下では、骨芽細胞分化関連分子の発現促進が抑制された。また、Piezo1 KO細胞では、Yoda1投与や伸展刺激による骨芽細胞とセメント芽細胞分化関連分子の発現が認められなかった。

以上の結果から、歯根膜のhPDLPCは、歯列矯正による機械的ストレスをPiezo1を介して受容し、Ca²⁺/CREB伝達経路の活性化を介して骨芽細胞およびセメント芽細胞へと分化することが示唆された。

P2-15 「ヒト歯根膜線維芽細胞におけるオステオポンチン遺伝的バリエーション間での網羅的遺伝子発現解析」

高井 理衣¹、高田 鮎子¹、荒川 俊哉¹
(¹ 北医療大 歯 生化)

オステオポンチン (OPN) は、骨芽細胞をはじめ様々な細胞で発現する糖タンパク質である。OPNには2つのアイソフォームがあり、分泌型は細胞外マトリックスや炎症性サイトカインとして、細胞内型はシグナル伝達に関与すると報告されている。OPNは石灰化を抑制することも知られているが、そのメカニズムは不明である。口腔領域でも、ヒト歯根膜線維芽細胞に2種類の遺伝的バリエーションが存在するとされるが、機能の違いは明らかになっていない。

そこで本研究では、ヒト歯根膜線維芽細胞に存在する2つのOPNバリエーション (OPN-v1, OPN-v2) を強発現させ、マイクロアレイおよびqPCRにより遺伝子発現の網羅的解析を行い、各バリエーションの機能の比較を行った。

た。

その結果、マイクロアレイ解析ではOPN-v1強発現細胞で2160遺伝子、OPN-v2強発現細胞で2315遺伝子に1.5倍以上の発現変化がみられた。両バリエーション間で比較すると、SCUBE1がOPN-v1で、MALがOPN-v2で著しく発現上昇していた。石灰化に関連するものでは、細胞外マトリックスやサイトカインに関する30遺伝子に変化していた。qPCR解析では、石灰化に関する遺伝子のASPNやCOMP、BMP2、TGFβ3などで有意な発現変化が確認された。

以上より、OPNは両バリエーションとも石灰化に関与し、OPN-v1はシグナル伝達、OPN-v2はサイトカインに関与する可能性が示唆された。

P2-16 「温度制御式反復温熱刺激 (TRTS) 依存的骨芽細胞分化誘導メカニズムの検討」

石垣 寛高¹、冨並 香菜子²、工藤 忠明²、國分 俊繁¹、安藤 恵子²、中井 淳一²
(¹ 東北大 院歯 国際連携イノベーション歯学、² 東北大 院歯 口腔生理)

骨のリモデリング過程において骨芽細胞は重要である。本研究の目的は、マウス前骨芽細胞様細胞株MC3T3-E1の骨芽細胞分化に対する温度制御式反復温熱刺激 (TRTS) の効果を調査することである。プログラム温度調節が可能な特殊ガラス製加熱プレートを使用し熱刺激を与え、培地温度と加熱プレート表面温度との相関を測定した。プレートに播種したMC3T3-E1細胞は、増殖用または分化誘導用培地の中で、加熱プレートを介し3つの異なる温度のTRTSに曝露された (加熱プレート設定表面温度: 39.5℃、42℃、45℃とし、18時間/日までとした。アルカリホスファターゼ (ALP) 活性アッセイとアリザリンレッド染色アッセイにて骨

芽細胞分化の程度を評価した。またリアルタイムPCR法により、TRTS負荷に伴う分化マーカー遺伝子発現変動の短期的影響 (初期応答) を評価した。39.5℃でのTRTS曝露は18時間/日までの条件では細胞増殖率は減少せず、ALP活性の増加と石灰化の増強が惹起された。また骨芽細胞分化マーカー遺伝子のALPやSp7の発現レベルも TRTS により有意に上昇することが明らかとなった。さらに、これら遺伝子発現レベルの上昇はBMPシグナル阻害剤により有意に抑制された。以上よりTRTSはBMPシグナル依存的に前骨芽細胞の骨芽細胞分化を誘導することが示唆され、将来の骨再生技術の発展に寄与する可能性がある。

P2-17 「Periodontal Ligament Cells Contribute to Newly Formed Alveolar Bone after Orthodontic Tooth Movement in Mice」

Xiuping Nie¹、黒坂 寛¹、岩山 智明²、犬伏 俊博¹、竹立 匡秀²、山城 隆¹
(¹ 阪大 院歯 矯正、² 阪大 院歯 口腔治療)

Orthodontic tooth movement involves active remodeling of alveolar bone and periodontal ligament (PDL). Previous studies using genetic lineage tracing identified various cell types, including osteoblasts, as contributors to newly

formed bone during tooth movement. However, the specific contribution of PDL cells remains controversial due to limited marker specificity, as prior markers were expressed in multiple cell types, making it difficult to exclude osteoblast

contamination.

In this study, we utilized a novel lineage-tracing mouse model (Plap-1-GFP-2A-CreER; Rosa26-tdTomato), which exclusively labels PDL cells, enabling precise assessment of their role in bone formation under orthodontic forces. Combined with calcein labeling after force application, our results show substantial PDL cell contribution to new alveolar bone on the tension side. Based

on scRNA-seq analysis, a subtype of PDL cells with stem cell characteristics was identified, exhibiting the potential to differentiate into osteoblasts.

This study is the first to demonstrate the direct role of PDL cells in alveolar bone formation during orthodontic treatment, with key implications for promoting healthy bone remodeling.

P2-18 「老化細胞由来 Dkk1 は骨芽細胞分化を負に調節する」

石田 昌義¹、岩本 莉奈¹、宇田川 信之²、小林 泰浩¹

(¹ 松歯大 総歯研、² 松歯大 生化)

μCT解析の結果から老齢マウスの骨量は減少していた。なぜ、加齢による骨量減少が引き起こされるのか？我々は、老化細胞に着目した。老齢マウスの骨では老化細胞マーカー p16、p21発現量は増加し、老化細胞で高発現する炎症性サイトカイン（SASP）の発現量も増加していたことから加齢に伴って骨組織に老化細胞蓄積と慢性炎症が生じることが示唆された。そこで、マウス骨髄由来間葉系幹細胞株ST2細胞を繰り返し継代し細胞老化を人為的に誘導した。老化ST2細胞では骨芽細胞分化が抑制され、Wntシグナル抑制因子Dkk1の発現が有意に上昇していた。ST2細胞にcGAS-STING経路

の下流分子の2、3-cGAMPやIFN-betaを添加するとDkk1の発現上昇が観察された。興味深いことにin vivoにおいても老齢マウスでは骨髄内Dkk1陽性細胞数増加と血中cGAMP量は有意に増加を示した。また、老齢マウスに老化除去薬であるdasatinibとqueceratinを複数回投与すると、骨におけるDkk1産生は減少した。以上より、老齢マウスで骨量減少には、老化細胞由来Dkk1によるものと示唆され、Dkk1産生源は老化細胞の蓄積であり、老化細胞ではcGAS-STING経路を介してDkk1産生が引き起こされることが示唆された。

P2-19 「破骨細胞を用いた重力ストレスセンサーの探索」

高橋 夏大^{1・2・3}、藤田 昭彦^{2・3・4}、畔津 佑季^{2・3}、唐川 亜希子^{2・3}、高見 正道^{2・3}、茶谷 昌宏^{2・3}

(¹ 昭医大 歯 医科歯科連携、² 昭医大 歯 歯科薬理、³ 昭医大 薬理科学研、⁴ 昭医大 歯 矯正)

【背景】宇宙空間では骨量減少が顕著であるが、重力ストレスが破骨細胞に及ぼす影響は不明である。本研究では、過重力発生装置を用い、破骨細胞の骨格構造および骨吸収能に対する重力の影響を解析した。

【方法】C57BL/6J雄マウス骨髄由来の破骨細胞に、1G、3G、5G、30Gの環境で30～60分間の重力変化を与え、細胞骨格構造の変化を調べた。TRAP染色、Tubulin・Vinculinの免疫染色、アクチンリングを構成するF-actinのPhalloidin Rhodamine染色を実施した。また、Dentin slice上で破骨細胞の単独培養および骨芽細胞との共存培養を1G、30G環境で10日間実施し、Pit assayおよびToluidine blue染色により骨吸収能を評価した。さらに、破骨細胞のリン酸化プロテオーム解

析を行った。

【結果・考察】過重力群では最低30分間の過重力変化でアクチンリングの帯幅の一部が増大し、蛍光輝度の顕著な低下が確認された。また、核がアクチンリングに偏在する傾向が認められ、骨吸収窩の面積が減少した。リン酸化プロテオーム解析の結果、5G群では1G群と比較してリン酸化が116個のタンパク質で増加、165個で減少した。一部の細胞骨格構造タンパク質では最大約100倍のリン酸化増加を認めた。以上より破骨細胞は短時間の過重力変化に対してアクチンリング構造を変化させて応答し、骨吸収能を制御することが示唆された。破骨細胞のアクチンリングは重力ストレスセンサーとして機能する可能性が示された。

P2-20 「Periostin 遺伝子欠損マウスは加齢に伴い硬組織の形態異常を呈する」

藤田 昭彦¹、茶谷 昌宏^{2,3}、高橋 夏大^{2,3,4}、唐川 亜希子^{2,3}、畔津 佑季^{2,3}、坂井 信裕^{2,5}、高見 正道^{2,3}

(1 昭医大 歯 矯正、2 昭医大 歯 歯科薬理、3 昭医大 薬理科学研、4 昭医大 歯 医科歯科連携、5 昭医大 歯 歯学教育)

【背景】Periostin (POSTN) は硬組織近傍に発現し、骨芽細胞分化に関与するといった報告がある。しかし、その破骨細胞の分化過程における機能は明らかではない。本研究では、Postn遺伝子欠損型マウスの硬組織形態解析と、破骨細胞の分化過程での機能解析を行った。

【方法】μCTを用いて、Postn遺伝子欠損型マウスと野生型マウスの形態解析および骨量解析を行った。また、破骨細胞分化における機能解析のため、破骨細胞の分化誘導系にPOSTNを添加する培養実験とそのRNA-seq解析を行った。

【結果】Postn遺伝子欠損型マウスのμCT解析から、切歯に18から62週齢への加齢に伴う形態異常を認めた。また、下顎骨の肥厚化などの形態変化を認めた。大腿

骨では膝蓋骨周囲の異所性骨化を認め、骨量解析から加齢に伴う骨量の低下が抑制されていた。培養実験から、培養一日目にPOSTNを添加すると、破骨細胞の分化が抑制された。さらには、RNA-seq解析でPOSTN添加により、Nfatc1、Rank、Ctskなどの破骨細胞分化関連遺伝子の発現が低下し、M1マクロファージ関連遺伝子などの免疫関連遺伝子の発現が上昇した。

【考察】POSTNは、加齢に伴う硬組織の恒常性維持に寄与する因子である可能性が示唆された。培養実験において、POSTN存在下で破骨細胞への分化が抑制され、免疫系細胞への分化を支持する遺伝子発現が認められたことから、POSTNが破骨前駆細胞の分化運命を抑制的に制御する可能性が示された。

P2-21 「破骨細胞分化では RNA 代謝酵素群の発現が変動する」

中島 和久¹、出野 尚¹、山下 照仁²、二藤 彰¹

(1 鶴大 歯 薬理、2 松歯大 歯 生化)

破骨細胞の分化・成熟の過程はRANKLが惹起して、単球・マクロファージ系前駆細胞が酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ (TRAP) 陽性の多核細胞へと分化する。破骨細胞の分化・多核化に伴う、転写の制御機構とRNA転写産物とその量の変化の全容は明らかではない。今回、我々は前駆細胞とRANKL刺激細胞にてRNAセンサー群とRNA代謝酵素群の発現を網羅的に解析した。

【結果】RANKL刺激24時間後では、細胞内RNAセンサー分子の発現に変化はないものの、分泌型RNase並びに一部の細胞質型RNaseの発現が減少した。RNA代謝酵素群転写量の変化の意味を探るために、マウス骨髓細胞

由来マクロファージにアデノウイルスを感染させた。アデノウイルス感染24時間後にRANKL刺激で分化誘導すると、外来性cDNAを発現しないAd-null感染細胞は多核化を示した。一方、外来性cDNAを発現するアデノウイルス感染群ではTRAP陽性細胞は出現するものの多核化が阻害された。一方、破骨細胞分化が開始したRANKL刺激24時間後の細胞に感染させると多核細胞が出現した。

【考察】以上の観察はRANKL刺激によるRNAセンサー群とRNA代謝酵素群の発現調節が、破骨細胞への分化と多核化に重要である可能性を示唆している。

P2-22 「無歯期から乳歯列期、永久歯列期にいたる副鼻腔と眼窩下管における三次元形態の変遷」

松永 智¹、笠原 典夫²、塩崎 一成³、山本 仁²、阿部 伸一¹

(1 東歯大 解剖、2 東歯大 組織発生、3 日大松戸歯 解剖)

【目的】副鼻腔の本格的な成長発育は歯の萌出後に起きることが知られているが、その一方で神経系を内包する眼窩下管は成長のピークが早いとされる。しかしながら、副鼻腔や眼窩下管が中顔面の成長発育に与える影響とその相互的な関係については、不明な点が多く残されている。そこで本研究では、無歯期、乳歯列

期、永久歯列期のそれぞれの歯齢における副鼻腔（上顎洞と前頭洞）と眼窩下管の体積を検索することで、副鼻腔と眼窩下管の相互的な成長発育が顎顔面領域の形成に及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。

【方法】試料として、東京歯科大学解剖学講座所蔵の

インド人乾燥頭蓋骨を用いた。歯の萌出状態により、無歯期、乳歯列期（Hellmanの歯齢ステージⅡA）、永久歯列期（Hellmanの歯齢ステージⅣA）の3グループを設定した。CT撮像後に、上顎洞、前頭洞および眼窩下管における三次元立体構築を行った。また体積計測を行い、各グループにおける平均値と標準偏差を算出した。

【結果】乳歯列期、永久歯列期の双方で眼窩下管は鼻

腔に対する割合がほぼ一定だったが、上顎洞は永久歯列期に急激な高値を示した。前頭洞は乳歯列期に出現するが、必ず左右非対称であった。

【考察】歯の萌出にともない上顎洞の体積は顕著な増加を起し、眼窩下管を眼窩下壁に押し込むように上顎骨体全体に広がり、顎顔面領域の形成に大きく関与することが示唆された。

P2-23 「下顎無歯顎の顎堤高さと歯槽頂骨密度に関する検討」

岩崎 正敏¹、榊 実加²

（¹ 日大松戸歯 顎口腔機能補綴、² 日大松戸歯 解剖）

【緒論】義歯に加わる咬合圧は顎堤によって負担されることから、義歯製作の際に歯槽頂部の骨性状を理解する事は重要である。本研究では、下顎無歯顎患者のCT画像を用いて顎堤高さと歯槽頂部皮質骨の骨密度の関係をCT値を用いて検討した。

【方法】下顎無歯顎の男性47名（75.2±6.2歳）、女性50名（76.7±7.1歳）の計97名の左右前頭断CT画像194枚を用いた。CT値の測定箇所は、オトガイ孔から10mm遠心部の断面画像から、歯槽頂部と下顎骨最下点部を5名の補綴専門医が選択した。測定は5回行いその平均値とした。また、オトガイ孔上縁と下縁の高さから残遺歯槽頂残存率を算出し3群に分類した。さらに、歯槽頂部のCT値と下顎骨最下点部のCT値から歯槽頂部骨密

度を算出した。統計学的分析は、一元配置分散分析を用いた。多重比較には、Bonferroni法を用いた。残遺歯槽残存率と歯槽頂部骨密度の相関関係は、Spearmanの順位相関係数を用いて評価した。

【結果と考察】計97名の残遺歯槽頂部残存率は平均で0.56±0.37であり、歯槽頂骨密度は0.75±0.16であった。また、最も残遺歯槽頂残存率が高い群では低い骨密度0.59±0.15を示し、低い群では高い骨密度0.83±0.13を示し群間に有意差が認められた（P<0.05）。つまり、下顎骨無歯顎の顎堤は高さが高いほど歯槽頂部の骨密度は低下する傾向にあった。よって、高さが高く状態が良好と思われるほど歯槽頂に強い咬合圧がかからないような配慮が望ましい。

P2-24 「液状食の継続摂取により発育阻害されたラット下顎頭に対する固形食への変更が与える発育改善効果」

田村 千景^{1,2}、高橋 茂¹、佐藤 匡¹、八若 保孝²

（¹ 北大 院歯 口腔機能解剖、² 北大 院歯 小児障害者）

【目的】これまで私たちは成長期ラットに液状食を継続的に摂取させると下顎頭の発育が阻害されることを報告してきた。本研究では、発育阻害された下顎頭は液状食から固形食への変更により改善可能なのかについて明らかにすることを目的とする。

【材料と方法】生後21日齢で離乳したWistar系雄性ラットに液状食を8週間与えた後固形食に変更し4週間飼育した（変更食群）。比較対照として液状食（液状食群）あるいは固形食（固形食群）を12週間与える群を設定した。飼育期間が終了したラットには灌流固定を行い、μCTにより下顎頭の幅径、高径、長径を測定した。また、下顎頭部の前頭断H-E標本を作製し、光顕的観察を行うとともに下顎頭軟骨の線維層、増殖層、肥大軟骨層

の厚さを計測した。

【結果と考察】μCT解析では、変更食群の下顎頭は液状食群よりも幅径、高径、長径全てにおいて有意に大きく、さらに高径、長径に関しては固形食群と有意差が認められなかった。しかし、変更食群の幅径は固形食群よりも有意に小さかった。組織学的には、変更食群の肥大軟骨層は液状食群のそれよりも厚かったが、全ての軟骨層において固形食群との間には有意差がみられなかった。

以上の結果より、液状食の継続摂取により発育阻害されたラット下顎頭は固形食への変更により概ね改善することが明らかとなった。

P2-25 「トウレット症候群関連遺伝子 Slitrk1 による骨伸長制御」

峠 智之^{1,2}、松原 琢磨¹、白川 智彦^{2,3}、永野 健一⁴、中富 満城⁵、井上 萌李^{1,2}、Addison William¹、川元 龍夫²、古株 彰一郎¹

(¹ 九歯大 分子情報生化学、² 九歯大 顎口腔機能矯正、³ Oral Medicine, Infection, and Immunity, Harvard School of Dental Medicine、⁴ 長大 院医歯薬 口腔病理、⁵ 産医大 産業保健 人間情報)

トウレット症候群 (TS) は、運動性チックや音声チックを主症状とし、注意欠陥多動障害などの神経精神疾患を併発する。さらに、TS患者では骨成熟の遅延や相対的な低身長が挙げられるが、その詳細なメカニズムは不明である。われわれは最近、トウレット症候群関連遺伝子 Slitrk1 遺伝子欠損マウス (Slitrk1 KO) の体長が有意に短いという知見を得た。そこで本研究では、成長板軟骨における Slitrk1 の発現と軟骨形成における Slitrk1 の機能解析を行った。

8週齢雄マウス的大腿骨および脛骨の長さより、Slitrk1 KOは野生型と比較して短く、さらに3週齢の Slitrk1 KOでは成長板が有意に薄かった。In situ hybridization法より、Slitrk1 mRNAは成長板の増殖

軟骨層に強く発現していた。背部にBMP2含有コラーゲンペレットを埋入し、異所性軟骨形成を観察した。アルシアンブルー染色と定量的PCRにより評価した結果、Slitrk1 KOでは、野生型と比較して軟骨形成の遅延が認められた。軟骨前駆細胞株ATDC5をインスリン・トランスフェリン・セレン存在下で軟骨細胞への分化を誘導したところ、Slitrk1の発現量は分化の進行に伴い減少した。Slitrk1の発現をノックダウンしたATDC5の生存をWST-8で検討した結果、コントロールに比べ Slitrk1ノックダウン群の細胞の生存が減少していた。

これより、Slitrk1は成長板の増殖軟骨層に発現し、軟骨細胞の増殖を制御することで、骨伸長に関する可能性が示唆された。

P2-26 「レチノイドの局所投与による誘導的骨成長」

内部 健太¹、河野 尚平¹、寺山 隆司¹

(¹ 広大 院医系科学 顎顔面解剖)

成長期における成長板軟骨の損傷は、骨の成長障害や変形を引き起こし、その後の成長のインバランスを招く原因となる事が知られている。現時点においては、骨端閉鎖術に代表される外科的処置が唯一の治療法である。

一方で、ビタミンAの過剰症は骨の成長板軟骨の早期消失を引き起こすことが知られているが、その発生機序は現在まで明らかとなっていない。本研究では、ビタミンAの活性型代謝産物であるレチノイン酸による成長板軟骨の制御機構を明らかにし、骨成長の調整への応用の可否を検討することを目的とした。成長期のマウスにレチノイン酸受容体 (RAR α / β / γ) の選択

的アゴニストを全身投与したところ、RAR γ アゴニストの投与によって著しい成長阻害が見られたが、RAR α 、RAR β アゴニストでは明らかな影響は見られなかった。ナノ粒子を用いたアゴニストの局所投与においては、コントロール粒子を投与した側と比較して骨成長の抑制が見られ、投与部位の調整により角状変形を誘導することも確認された。これらの結果より、ナノ粒子を用いたRAR γ アゴニストの局所投与は、標的の成長板の機能を調整することで、成長板損傷によって生じた四肢の長さの不一致や角状変形に対する薬剤治療の手法となる可能性がある事が明らかとなった。

P2-27 「Nuclear localization of CCN2 and its roles in chondrocytes」

Thi Xuan Nguyen¹、西田 崇¹、滝川 正春²、久保田 聡^{1,2}

(¹ Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, Dept Biochem Mol Dent、

² Okayama Univ Grad Sch Med Dent Pharm Sci, ARCOCS)

We previously reported that cellular communication network factor 2 (CCN2) regulates chondrocyte proliferation and differentiation. A

nuclear localization signal (NLS)-like sequence near the C-terminus of CCN2 suggests its ability to translocate into the nucleus in chondrocytes.

However, its nuclear localization and functions remain unclear. In this study, we examined whether CCN2 is localized to the nucleus and investigated its nuclear roles. Rat chondrocytic RCS cells were transfected with a Ccn2 expression plasmid tagged with HA at the C-terminus (pCcn2-HA). After 48h, immunofluorescence and Western blot analyses of cytoplasmic and nuclear fractions showed that CCN2 was localized in the nucleus. RT-qPCR revealed a significant

upregulation of Spi1 expression in pCcn2-HA-transfected cells. Gel shift assays confirmed that CCN2 binds to DNA fragments of the Spi1 promoter. Moreover, lubricin expression, a marker of the superficial zone of articular cartilage, was significantly increased in Spi1-overexpressing RCS cells. These data suggest that nuclear CCN2 acts as a transcriptional cofactor for Spi1 and promotes lubricin expression, contributing to articular cartilage maintenance.

P2-28 「トランスクリプトーム解析を用いた secondary calciprotein particles により惹起される骨格筋分化抑制機序の解明」

河野 尚平¹、内部 健太¹、寺山 隆司¹

(¹ 広大院医系科学 顎顔面解剖)

骨格筋が量的・機能的に低下する病態を呈するサルコペニアは、慢性腎臓病（CKD）に頻発する合併症であり、予後不良因子として知られている。近年、CKDの進展とともに増加するリン酸カルシウム-タンパク質凝集体（secondary calciprotein particles, CPP2）が、CKDとその合併症の増悪因子として注目されている。我々は、ヒト初代培養筋芽細胞（hMb）筋分化モデルを用いて、CPP2がMyogeninやMYF5などの骨格筋分化に必須な転写因子群の発現変動を阻害し、筋細胞への分化及び筋管形成を抑制することを見出したが、その起点となる分子機序は不明である。そこで、hMb筋分化モデルを用いてトランスクリプトーム解析

を実施した。発現変動遺伝子（DEGs）のエンリッチメント解析の結果、Myogenesis関連遺伝子の発現がCPP2により抑制されることが確認された。興味深いことに、CPP2は筋分化誘導では本来発現変動しない遺伝子群の増加・減少を惹起した。これらのDEGsのエンリッチメント解析の結果、CPP2によるBMP2及びTGF- β シグナルの活性化が示唆された。間葉系細胞の筋細胞/骨芽細胞への分化には、それぞれの細胞分化を担うシグナルの適切なオン・オフが要求される。したがって、本研究結果はCPP2が筋芽細胞において骨芽細胞分化シグナルを異所性に活性化し、筋細胞分化を抑制する可能性を示唆する。

P2-29 「腱組織形成におけるエピジェネティック制御因子 G9a の機能」

出野 尚¹、和田 悟史²、中島 和久¹、二藤 彰¹

(¹ 鶴大 歯 薬理、² 鶴大 歯 矯正)

H3K9のメチル化酵素として同定されたエピジェネティック制御因子G9aは様々な細胞分化に関与することが報告されている。我々は、マウス初代培養腱細胞にてG9aを欠損させると腱細胞の分化と増殖が抑制される事をすでに報告した。そこで今回本研究では、G9aが腱組織形成をどの様に制御するか、in vivoとin vitroにて解析した。解析はG9a flox/floxマウスとSox9-Creマウスから作出したG9a conditionalノックアウト(cK0)マウスを用いた。まず、Sox9-Cre;Rosa26-LacZマウスの腱組織のLacZ陽性細胞を観察し、Sox9-CreによるCreリコンビナーゼが腱前駆細胞で機能する事を確認した。cK0マウスの腱組織は野生型マウスに比べ形成不全である事を組織切片とwhole tissueで観

察した。cK0マウスと野生型マウスの腱組織における腱関連遺伝子（Scx、Col1、Tnmd）と増殖関連因子のmRNA発現をISHにて調べたところ、cK0マウスでそれらの発現が抑制されていた。BrdUラベリングではcK0マウスでBrdU陽性細胞数の減少が認められた。一方TUNEL染色ではcK0マウスと野生型マウスに差は見られなかった。野生型マウス由来の初代培養腱細胞にアデノウイルスを用いてG9aを過剰発現したところCol1、Tnmdの発現亢進がmRNAとタンパク質で認められ、またH3K9me2レベルも顕著に増加した。一方で、ScxのmRNAレベルはG9a過剰発現にて抑制された。以上の結果から、G9aが腱組織形成過程の増殖と分化に必須であることが示唆された。

P2-30 「咀嚼筋腱および周囲組織の解剖学的再評価—咀嚼筋腱・腱膜過形成症への臨床・画像診断へのアプローチ—

塩崎 一成¹、笠原 典夫³、榊 実加¹、松野 昌展¹、五十嵐 由里子¹、松永 智²
(¹日大松戸歯 解剖、²東歯大 解剖、³東歯大 組織)

開口障害を呈する疾患の一つに咀嚼筋腱・腱膜過形成症(Masticatory Muscle Tendon Aponeurosis Hyperplasia)があり、その特徴として①無痛性であるとともに緩やかに進行する硬性の開口障害であること、②比較的若い世代での発症が多いということ、③咬筋前縁における索状硬結の蝕知があること、④Square Mandibleを呈することが知られている。

さらに、本疾患では強制開口時に硬性開口障害があり、かつ下顎枝外側部での咬筋の発達および骨としての下顎角部の膨隆を呈する 경우가多いが、前述のような顔貌の形態的特徴のない症例も報告されている。この場合には側頭筋あるいは内側翼突筋に腱、腱膜の過形成があると考えられる。また、診断評価にはMRI・

CT画像が用いられ、その評価により開口訓練が行われ、場合によっては外科的治療が行われている。

外科的治療が選択された場合には、過形成を生じている部位の腱および腱膜を切離、切除するが、同時に筋突起を切離することで術後の開口量の回復が良好するとの報告もある。解剖学的に考えて、咀嚼筋のうち筋突起に停止する側頭筋に過形成があった場合には、筋突起切離を行うことで開口量が回復することは容易に想像できるが、同時に他咀嚼筋に過形成があった場合でも開口量が回復することにはいささかの不明点が残っている。そこで咀嚼筋各部位を含めた顎関節の肉眼解剖を行い、再評価を行ったのでその概要を報告する。

P2-31 「新規高輝度発光 IP3 センサー LUCINA とハイスループット測定法の開発」

谷村 明彦¹、郷 賢治¹、根津 顕弘¹
(¹北医療大 歯 薬理)

イノシトール1,4,5-三リン酸(IP3)は細胞内ストアからCa²⁺を放出させる重要な細胞内情報伝達物質である。近年、ホタルルシフェラーゼの約100倍のシグナルを発する発光タンパク質としてGreen Enhanced Nano lantern (GeNL)と、それを使った発光センサーが開発されている。我々はGeNLの発光タンパク質NanoLuc部にIP3受容体リガンド結合ドメイン(IP3R-LBD)を挿入した発光IP3センサー(LUCINAシリーズ)とプレートリーダーを使った簡便なIP3濃度測定法を開発した。IP3によるLUCINAの発光シグナルの変化をプレートリーダーを使って測定したところ、IP3濃度依存的な発光の増加が認められた。この発光シグナルの増加に対するIP3のEC50は約0.1μMで、最大変化

率は約20%であった。またこのIP3センサーを発現するCOS-7細胞のATP刺激による最大発光変化率は約8%であった。さらにAlphaFoldを用いた分子構造予測の結果に基づいて、発光タンパク質NanoLucとIP3R-LBDを使った改良型発光IP3センサー(LUCINAII)を開発した。LUCINAIIでは発光強度が約10倍でシグナル変化率が約2倍に改善された。これらの発光IP3センサーや発光Ca²⁺センサー(GeNLCa²⁺)を使った実験結果として、Ca²⁺応答に必要な細胞内IP3濃度やCa²⁺シグナルの発生におけるIP3のCa²⁺の相互作用等について報告する。

会員外共同研究者: Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia Rezon Yanual、大阪大学産業化学研究所 永井健治

P2-32 「摂食速度は覚醒時の唾液分泌低下を簡便に評価するための指標となりうる」

根津 顕弘¹、高橋 茂²、加藤 志織¹、谷村 明彦¹
(¹北医療大 歯 薬理、²北大 院歯 口腔機能解剖)

唾液は食事の食塊形成や嚥下に重要な役割を果たすことから、唾液分泌低下が食餌時間の延長や飲水量を増加させる可能性が考えられる。我々は、ラットの摂餌速度や飲水量と覚醒時の唾液分泌変動との関係を調べるため、分泌を抑制する薬物や分泌低下モデルラットを用いて検討した。24時間絶食したWistar/STラットに固形餌1gを60分間隔で摂餌させ、完食までの

時間を測定した。ラットは飲水することなく固形餌1gを完食し、繰り返した3回の摂餌時間はそれぞれ272、248、262秒であった。この結果は、十分な間隔を開けることでラットは固形餌1gを一定速度で摂餌することを示している。摂餌速度に対する唾液分泌低下の影響を調べるため、分泌低下を起こす薬物を用いて検討した。ブチルスコポラミン投与前と投与後の摂餌時間は

それぞれ232および378秒、またブメタニド投与前と投与後で223および372秒と、いずれの薬物でも摂餌速度が延長した。さらに液状餌飼育ラットの摂餌時間を測定した。固形餌群と液状餌群の摂餌時間はそれぞれ222および368秒で、液状餌群の摂餌速度は有意に長

かった。また液状餌群では、アセチルコリンの持続投与（60-720 nmol/min）による唾液分泌が固形餌群の50-85%に低下していた。ラットの固形餌の摂餌速度は唾液分泌の低下で延長することから、覚醒時の唾液分泌の簡便な指標となる可能性が示唆された。

P2-33 「唾液腺腺房細胞のクローディング発現変化に対する BMP の効果」

吉垣 純子¹、横山 愛¹、加藤 治¹
(¹ 日大松戸歯 生理)

唾液腺腺房細胞のタイト結合は主にclaudin-3で構成されており、水やナトリウムイオンを通す性質を持つ。しかし放射線照射などの組織傷害を受けると、それまで発現していなかったclaudin-4を発現し始める。また、組織傷害に応答してマウス耳下腺ではBMP2の発現が増加し、細胞増殖を促すことを我々は報告している。そこで本研究では、BMPに対する阻害剤がタイト結合タンパク質の発現に与える影響について検討した。ラット耳下腺から腺房細胞を酵素処理によって単離し、2%ラット血清存在下で培養を行った。その際、BMPおよびTGFβファミリーの受容体に対する阻害剤を添加して培養し、タンパク質を回収してウエスタ

ンブロットングを行った。我々は、耳下腺腺房細胞に酵素処理を行うことで組織傷害シグナルがトリガーされ、claudinの発現変化が起こることを既に報告している。阻害剤非存在下ではclaudin-4の発現増加が確認されたが、LDN-193189、SB431542の添加により発現が抑制された。しかし、LDN-212854の添加では変化しなかった。LDN-212854はALK1および2の阻害剤であり、LDN-193189はALK1、2以外にALK3および6を阻害する。したがって、claudin-4の発現増加は、ALK3およびALK6のリガンドであるBMP2またはBMP4で制御されていることが予想された。

P2-34 「唾液腺の導管組織における Trophoblast cell-surface antigen 2 (TROP2) の発現と局在」

福島 美和子¹、井上 知¹、藤川 芳織¹、野中 直子¹
(¹ 昭医大 歯 口腔解剖)

加齢唾液腺では腺房細胞の著しい減少がみられる一方、導管組織の数量的な変化は顕著ではなく、形態的に細胞の萎縮性変化がみられ、その残存能力には何らかのメカニズムが関与すると考えられる。我々は導管の残存メカニズムとして細胞接着装置が関与する可能性を考えた。Trophoblast cell-surface antigen 2 (TROP2)は膜貫通型タンパク質であり、細胞表面におけるタイト結合の発現を安定化させることが知られている。我々は、TROP2の導管組織における持続的な発現が加齢唾液腺での導管の残存に関与すると仮定した。そこで、免疫染色法を用い、若齢および加齢唾液腺におけるTROP2の発現および細胞内局在を解析した。その結果、TROP2は若齢雌マウスの顎下腺におい

て、小葉間導管から線条部導管の細胞表面かつ基底側膜に局在していることが示された。TROP2陽性細胞は特に線条部導管に多く、一方、顆粒性細胞では弱陽性、介在部導管では陰性であった。また、TROP2との共局在が報告されているタイト結合タンパク質のClaudin-7は小葉間導管から介在部導管の基底側膜に陽性を示した。一方、老齢マウスの唾液腺では、TROP2は萎縮した導管細胞や介在部導管にも陽性を示し、Claudin-7と共局在を示した。以上のことから、TROP2は加齢唾液腺の導管では若齢時に発現しない導管組織においても発現し、Claudin-7と機能的に関連する可能性が示唆された。

P2-35 「マウス顎下線における PER2::LUC 概日変動の発振および発達過程の検討 The development of PER2 circadian rhythm on murine salivary glands」

内田 仁司¹、中村 渉¹

(¹ 長大 院医歯薬 加齢口腔生理)

生体には1日24時間の環境変化に適応し、その時刻によって最適な生理機能を発揮するための制御機構が存在する。これは時計遺伝子によって構成される概日時計機構が担っていると考えられており、その中枢は視床下部視交叉上核に存在する。また、視交叉上核以外の脳神経部位や各末梢組織にも末梢時計と呼ばれる固有の時計機構が存在し、中枢時計は末梢時計を組織化することで生理機能の時間制御が行われると想定されている。しかしながら、概日時計機構が「いつ」、「どのように」備わるかについて不明な点も多い。そこで本研究では、マウス唾液腺における概日時計機構の発振・発達過程の検討を行った。概日時計の振動の検出には時計遺伝子Period2 (Per2)の下流にLuciferase

(Luc)を組み込んだ遺伝子改変 (Per2::Luc) マウスによる生物発光レポーターアッセイを用い、胎生期から成獣期のPer2::Lucマウスから唾液腺を摘出し、ex vivoで測定を行った。その結果、胎生期唾液腺の分枝形態形成の進行に伴ってPER2::LUC発光振動が徐々に出現し、出生前に明瞭な概日変動を示すことを見出した。また、生後発達期にPER2::LUC概日変動の頂値位相が成熟の過程を経て、離乳1週間後(生後4週齢)に成獣と同等の位相となることが明らかとなった。以上のことから、末梢組織の概日時計機構は分化の段階に伴って組織自律的に出現し、組織の機能成熟に伴って適切な位相をとる過程を経ることが明らかとなった。

P2-36 「喫煙やうま味刺激が唾液プロテオームのフラクタル性に及ぼす影響」

古山 昭¹、大須賀 謙二¹、川合 宏仁¹、山崎 信也¹

(¹ 奥羽大 歯 口腔機能分子生物)

喫煙や味覚刺激が唾液中タンパク質の発現パターンに及ぼす影響を明らかにすることを目的として、非喫煙者および喫煙者の男性ボランティアを対象に、安静時およびうま味刺激後(2分後・22分後)の唾液を採取し、2次元電気泳動(2DE)を用いた網羅的解析を行った。実験は顎舌下腺唾液を用いた1回目と、総唾液を用いた2回目の、合計2回実施した。各実験ではそれぞれ7名分の唾液をプールして6種のサンプルを作成し、それぞれのサンプルに対して2DE解析を行った。タンパク質スポットは銀染色またはコロイドCBB染色により可視化し、PDQuestソフトウェアでスポット強度を定量化した。得られたデータに中央値センタリングを施し、非中心相関距離を距離指標としてaverage

linkage法により階層的クラスタリングを行った。両実験でタンパク質スポット群はともに、8つのクラスターに分類され、そのうち5つのクラスターでは、実験間で高い類似性が確認された。さらに、スポット強度と累積スポット数の両対数プロットを行い、ベキ関数または指数関数で近似して、唾液タンパク質の全体的な発現パターンを解析した。その結果、総唾液では、非喫煙者で、ベキ分布傾向がうま味刺激後特に顕著で、フラクタル性が認められたのに対し、喫煙者では指数分布傾向でフラクタル性が認められなかった。顎舌下腺唾液ではフラクタル性が不明瞭だったが、クラスター単位では、総唾液と類似したフラクタル性が認められた。

P2-37 「老化が耳下腺の副交感性血流増加および唾液分泌に及ぼす影響と口腔乾燥症との関連性」

佐藤 寿哉¹、島谷 真梨¹、石井 久淑¹

(¹ 北医療大 歯 生理)

【目的】我々は、口腔感覚入力により唾液分泌と共に唾液腺に副交感性血流増加が誘発され、この血流増加が唾液分泌と密接に関わることを報告してきた。高齢者はしばしば唾液分泌低下による口腔乾燥を伴うが、

その発症機序における唾液腺の副交感性血流調節の関与は明確にされていない。耳下腺は刺激唾液の分泌に重要であり、顎下腺と比較して老化による萎縮や脂肪変性が顕著である。そこで本研究は老化が耳下腺の副

交感性血流増加と唾液分泌に及ぼす影響を検討し、老化に伴う口腔乾燥の発症機序を解明することを目的とした。

【方法】10週齢（若齢）および40週齢（老齢）のWistar系雄性ラットをウレタン麻酔下に管理し、耳下腺を支配する副交感神経は舌咽神経を求心性に電気刺激し反射的に活性化させた。唾液分泌は綿球法により定量し、血流動態は2次元血流計を用いて記録した。

【結果】舌咽神経刺激は若齢・老齢ラットの耳下腺において刺激頻度依存性の唾液分泌および血流増加を誘

発したが、老齢群では唾液分泌および血流増加ともに若齢群と比較して約40%の低下が認められた。また、血流増加と唾液分泌には正の相関が認められた（ $r = 0.90$, $p = 0.003$ ）。これらの反応は自律神経節遮断薬の静脈内投与により顕著に抑制された。

【結論】耳下腺の副交感性血流増加および唾液分泌は老化により低下することが明らかとなり、唾液分泌の低下と副交感性血流増加の減弱との密接な関連性が示唆された。

P2-38 「シェーグレン症候群モデルマウスの骨髄環境における B 細胞分化機構の解明」

牛尾 綾¹、木下 祐理^{1,2}、石井 麻未^{1,3}、布川 裕規¹、石丸 直澄¹

(¹ 科学大・院医歯 口腔病理、² 科学大・院医歯 咬合矯正、³ 科学大・院医歯 歯科麻酔)

シェーグレン症候群（SS）は涙腺や唾液腺を標的とする自己免疫疾患であり、閉経期の女性に好発する。自己免疫疾患患者における血清中の自己抗体検査は重要な診断基準の一つであり、SSでも抗SS-A/Ro抗体や抗SS-B/La抗体検査はSSの診断に有用である。抗体産生細胞を含むB細胞は骨髄にて前駆細胞であるプロB細胞やプレB細胞へと分化し、末梢組織にて成熟B細胞として存在する。我々が使用しているSSモデルマウスにおいても、血清中の自己抗体値の上昇や標的臓器におけるCD19陽性B細胞の増加がみられるが、その前駆細胞産生場である骨髄環境についてはよくわかっていない。関節リウマチマウスの骨髄中では未熟B細胞を含むB細胞系統の細胞数が減少していることが報告さ

れており、T細胞が主体をなすと考えられている自己免疫疾患でも骨髄レベルで様々な変化が起きていると推察できる。本研究では、SSモデルマウスの骨髄環境について特にB細胞の分化に焦点を当てて解析することで、SSの病態解明を目指す。

これまでに、雌SSモデルマウスの骨髄では、CD45R陽性IgM陰性IgD陰性CD19陰性CD43陽性のpre-pro B細胞やCD45R陽性IgM陰性IgD陰性CD19陽性CD43陽性pro B細胞数が減少していることを確認した。現在、SSモデルマウスの骨髄にみられるこれらの変化における性差の有無について検討するとともに、骨髄環境と標的臓器に観察される病態及び血清自己抗体値との関連について検討中である。

P2-39 「亜鉛欠乏性味覚障害の鑑別診断としての血清亜鉛値と唾液亜鉛値の比較」

藤山 理恵¹

(¹ 長大 院医歯薬 総歯臨教)

亜鉛欠乏は味覚異常の主な原因の一つと考えられ、その診断は血清亜鉛値測定により行われることが通例である。一方、唾液分泌障害患者では、味覚障害を高率に合併することが知られており、味覚障害の診断治療において、唾液分泌能検査は、重要である。また、唾液中にも亜鉛が含まれていることは知られており、唾液中亜鉛濃度を亜鉛欠乏の診断に用いることが可能であれば、患者・医療者双方の負担軽減に有益と考えられる。しかし、唾液、血清亜鉛濃度の相関を検討した報告は乏しいのが現状である。

今回、長崎大学病院味覚外来の初診患者を対象とし

た。しかし、すでに亜鉛製剤服用中または亜鉛のサプリメントを摂取している患者は除外した。通常診療と同じように初診での問診、味覚検査（電気味覚計による検査およびソルセイブを用いた検査）、サクソテストを行ったのち、血清亜鉛値および血清銅値測定のための採血を行った。その後、唾液亜鉛値測定のための唾液採取を行った。すべての検査は午前中に行った。血清亜鉛値と唾液亜鉛値の関連性について解析した結果、両者には正の相関がみられた。亜鉛欠乏症の診断に侵襲性の少ない唾液を用いた診断の可能性が示唆された。

P2-40 「スルファミン酸塩の種特異的甘味感受性の分子メカニズム」

實松 敬介^{1,2,3}、永里 侑貴¹、川端 由子¹、高井 信吾¹、重村 憲徳^{1,3}(¹ 九大 院歯 口腔機能解析、² 九大 院歯 OBT 研究セ、³ 九大 院歯 五感応用デバイス)

味覚Gタンパク質共役受容体であるTAS1R2/TAS1R3は、甘味受容体として機能する。ヒトは人工甘味料サッカリンNaやアセスルファムKといったスルファミン酸塩に対してマウスよりも高い感受性を示すことが知られている。しかしながら、その種特異的感受性の種差を生じるメカニズムは不明である。そこで本研究では、甘味受容体を強制発現させたHEK293細胞におけるカルシウムイメージングと分子動力学シミュレーションを用いて、その分子メカニズムの解明を試みた。キメラ体解析の結果、TAS1R2のVenus flytrapドメイン (VFD) がスルファミン酸塩の種差に必須であることが明らかとなった。分子動力学シミュレーションにより、スル

ファミン酸塩はVFD内のポケットに結合し、ヒトではIle-67、マウスではLeu-70と直接相互作用することが示された。ヒトTAS1R2におけるマウス型変異 (I67L) はスルファミン酸塩に対する受容体活性および結合安定性を低下させ、逆にマウスTas1r2のヒト型変異 (L70I) はそれらを増加させた。構造-活性相関解析では、イソロイシンの炭素骨格が結合の安定性において重要な役割を果たしていた。これらの結果から、スルファミン酸塩の種特異的感受性はTAS1R2細胞外領域の一アミノ酸残基により決定づけられることが明らかになった。

P2-41 「単体苦味溶液に味覚嫌悪を条件づけられたラットの苦味識別性と条件づけ消去の特徴」

高橋 慎平¹、岩田 周介¹、安尾 敏明¹、諏訪部 武²、碓 哲崇¹(¹ 朝日大 歯 口腔生理、² 朝日大 歯 口腔解剖)

【目的】我々は苦味混合溶液に味覚嫌悪を条件づけたラットが、甘味混合溶液に条件づけられたものに比べ、その含有物の識別性が低いこと、および、甘味に条件づけられたものより条件づけの消去時間が長いことを示してきた。本研究では、苦味単体溶液に条件づけられたラットでも苦味混合溶液に条件づけた時と同様の行動応答がみられるかを検討した。

【方法】7週齢の雄性Wistar / STラット (各味質に対してn=13) を用いた。条件刺激 (CS) として0.3mM 塩酸キニーネ (Q)、0.3mM 安息香酸デナトニウム (D) を用いた。苦味に事前暴露を行ったラットを実験群と対照群に分け、0.15M LiCl (対象群は生理食塩水) 腹腔内投与を無条件刺激とした味覚嫌悪を条件づけ、10

秒間のリック抑制率を10日間観察した。

【結果と考察】どのCSに条件づけられたラットも、実験4日目までCSを含めて使用した3つの試験溶液に般化し、苦味物質間での識別が困難であることが示唆された。5日目以降からDに条件づけられたラットの一部から条件づけの消去が見られ始め、実験10日目であってもQとDに条件づけしたラットの30%以上は条件づけを消去しなかった。

以上の結果とこれまでの報告との比較から、条件刺激が混合物か単体かに関わらず苦味溶液の識別能力は、甘味溶液に比べて低く、条件づけの消去にかかる時間が長いことがわかった。

P2-42 「扁桃体内側核の苦味経路ニューロンにおける口腔内サッカリン刺激への興奮性応答の味覚新規性および味覚嫌悪学習による変化」

杉田 誠¹(¹ 広大 院医系科学 口腔生理)

扁桃体内側核のニューロン活性は味覚新規性恐怖に関連することが報告されている。一方で、生得的に嗜好性を示すサッカリン溶液を新規に摂取した後に、内臓不快感を誘発する塩化リチウムを腹腔内投与された際には、味覚嫌悪学習を獲得し、学習後にはサッ

カリウム溶液に嫌悪性反応を呈する。本研究では苦味受容体細胞にトレーサー (WGA-DsRed) を発現するトランスジェニックマウスを用い、味細胞から移行したWGA-DsRedにより標識される扁桃体内側核の苦味経路ニューロンについて、口腔内サッカリン溶液刺激によ

り誘発される興奮性応答を最初期遺伝子Zif268発現により検出し、サッカリン溶液への応答性がサッカリン味覚の新規性や学習に依存するかを探究した。扁桃体内側核でWGA-DsRedにより標識される苦味経路ニューロンの中では、サッカリン初回刺激で興奮性応答を示すニューロンの割合に比べ、サッカリンによる前刺激を3日行った後のサッカリン刺激で興奮性応答を示すニューロンの割合は低値を示した。対照的に、サッカ

リン初回刺激の場合に比較し、味覚嫌悪学習獲得後に苦味経路ニューロンの中でサッカリン刺激により興奮性応答を示すニューロンの割合は高値を示した。扁桃体内側核でWGA-DsRedにより標識される苦味経路ニューロンはサッカリン溶液の味覚への新規性恐怖や味覚嫌悪学習の獲得に応じ、サッカリン刺激への興奮性応答を変化させることが示唆された。

P2-43 「カプサイシン添加による糖輸送体を介したマウス味溶液摂取行動への影響」

岩田 周介¹、安尾 敏明¹、高橋 慎平¹、諏訪部 武^{1,2}、安松 啓子³、碓 哲崇¹、二ノ宮 裕三⁴

(¹ 朝日大 歯 口腔生理、² 朝日大 歯 口腔解剖、³ 東京歯科大学短期大学、歯科衛生学科、⁴ モネル化学感覚研)

香辛料は食のおいしさを際立たせる独特のフレーバーを醸成し、食味構築に重要な役割を果たすが、その味覚効果の実体は未だ不明である。唐辛子辛味成分カプサイシン (CAP) は三叉神経末端に存在する痛み受容陽イオン非選択的イオンチャネルTRPV1を刺激することは明らかになっているが、味覚への影響に関しては、相反する結果も含め多種多様の報告がなされている。しかし、これらの報告の多くは、TRPV1の感受性低下 (脱感作) を生じる30 μ M以上のCAPを用いており、味覚測定の再現性の問題も強く示唆される。我々は、脱感作を生じる可能性の低い3 μ M CAPの添加により、野生型 (C57BL6J/B6) マウスの鼓索神経応答で、

糖特異的な甘味応答およびNaClに対する応答が増強することを見出した。この増強効果は、甘味受容体構成分子T1R3遺伝子欠損マウス、新規甘味受容経路である糖輸送体SGLT1阻害薬フロリジン処理により消失した。併せて考えると、CAPによる甘味応答の増強は、SGLT1を介していることが予想されたが、この増強効果が、マウスの味溶液に対する摂取行動に影響を及ぼすかは調べられていなかった。本報告では、10秒間短時間リック試験を用い、3 μ M CAPの添加が、B6マウスにおける各種味溶液に対する摂取行動に変化を生じるか、さらにフロリジン処理がどのような影響を与えるか検証した。

P2-44 「増粘剤添加コーヒーがラットの鼓索神経応答および嗜好性に与える影響」

酒井 純¹、前田 知馨代³、大塩 茉奈¹、高橋 慎平²、岩田 周介²、安尾 敏明²、諏訪部 武⁴、岩瀬 陽子³、谷口 裕重¹、碓 哲崇²

(¹ 朝日大 歯 摂食嚥下リハビリ、² 朝日大 歯 口腔生理、³ 朝日大 歯 障害者、⁴ 朝日大 歯 口腔解剖)

【緒言】市販の増粘剤添加コーヒーが、増粘剤無添加の場合と比べて、どのような味覚特性を持っているのかをラットの鼓索神経応答および行動応答をもとに検討した。

【方法】実験1:市販のインスタントまたはドリップコーヒーを味刺激とし、Wistar/STラット (雄8週齢、n=6) の舌に滴下した時の鼓索神経応答を電気生理学的手法で検討した。解析は、増粘剤添加溶液に対する実際の神経応答と、非添加溶液および増粘剤単独溶液に対する応答の算術和とを比較することで行なった。実験2: Wistar/STラット (雄8週齢、n=12) を用いて48時間の二瓶選択試験を行った。呈示溶液は、インスタントコーヒーと蒸留水にそれぞれ、増粘剤を添加したものとし

なかったものとし、それぞれの組合せでの嗜好率を検討した。

【結果】実験1: 増粘剤添加インスタントコーヒーは、非添加および増粘剤単独溶液の算術和よりも有意に強い神経応答を示した (t-test: $p < 0.05$)。

実験2: 増粘剤添加インスタントコーヒーは、増粘剤単独溶液よりも有意に多く摂取された (t-test: $p < 0.01$)。

【結論】以上の結果から、本実験で使用したインスタントコーヒーへの増粘剤添加は、鼓索神経応答および嗜好性の両方を増強させる可能性が示唆され、増粘剤が味覚応答および嗜好性を変化させている可能性が示唆された。

P2-45 「うま味嗜好獲得メカニズムの解明に向けた行動実験パラダイムの確立」

乾 賢¹、長谷川 桃子²、石丸 佑太³、吉澤 知彦¹、船橋 誠¹(¹ 北大 院歯 口腔生理、² 北大 院歯 矯正、³ 北大 院歯 小児障害者)

うま味に対する嗜好はうま味溶液の摂取経験で高められることがマウスを用いた研究によって示唆されているが、そのメカニズムは明らかではない。そこで本研究では、うま味物質の一つであるグルタミン酸ナトリウム (monosodium glutamate, MSG) に対する嗜好をマウスに獲得させる実験パラダイムの確立を目指した。被験体として雄性C57BL/6マウス(n = 6)を用いた。17時間の給水制限後に0.01 mM MSGを15 分間呈示する試行を5回繰り返したが摂取量に変化はみられなかった。次に100 mMあるいは300 mM MSGを2時間呈示する試行を3回繰り返したところ、摂取量が有意に増加した (one-way ANOVA, $p < 0.01$)。この摂取量増加のメカニズムを調べるために、新たな個体 (n = 6) に対

して、リック微細構造分析法による嗜好性評価を行った。蒸留水の2時間呈示を1日おきに3回行った後に、300 mM MSGを4回呈示した。MSGにおいてのみ、試行の経過とともにバーストサイズ (高頻度リックの持続数) の有意な増大がみられた (one-way ANOVA, $p < 0.01$)。バーストサイズの増加は嗜好性上昇の指標となることから、本実験の結果はMSGの嗜好が上昇したことを示している。以上の結果から、1日2時間のMSG呈示を繰り返す方法は、うま味嗜好獲得メカニズムを解析するための行動実験パラダイムに有用であることが分かった。他のうま味物質についても同様の実験を行う予定である。

P2-46 「神経障害性疼痛における脊髄後角ニューロンへのシナプス入力の変調機構」

寺山 隆司¹、内部 健太¹、河野 尚平¹(¹ 広大 院医系科学 顎顔面解剖)

末梢神経損傷後に脊髄後角でグリア細胞の活性化が起こり、このような変化が神経障害性疼痛の発症に関与していると考えられている。本研究では神経損傷後の脊髄後角ミクログリアが脊髄後角ニューロンへのシナプス入力の変調機構および神経障害性疼痛の発症にどのように関与するかについて検討した。末梢神経損傷モデルとしてラットの脛骨神経の結紮・切断を用いた。神経損傷後3日および7日で、脛骨神経投射領域における侵害熱刺激によるc-Fos誘発細胞が対照群と比較して減少し、神経損傷後14日ではc-Fos誘発の有意な回復が認められた。ミクログリアの活性抑制剤であるミノサイクリン (30 mg/kg/day) を神経損傷当日から

8日間連続で腹腔内投与したところ、脊髄後角でのミクログリアの細胞マーカーであるOX-42蛍光免疫陽性像の神経損傷による増強が抑制された。また同様のミノサイクリン投与により脊髄後角二次ニューロンに対する侵害受容一次ニューロンからの過剰な収斂投射が抑制された。しかしながら神経損傷後7日目から8日間連続でミノサイクリンを投与した場合、ミクログリアの活性化および収斂投射の抑制効果は見られなかった。これらの結果は末梢神経損傷後のミクログリアの活性化が脊髄後角ニューロンに対する異常な侵害受容入力と神経障害性疼痛の発症において重要な役割を果たしていることを示している。

P2-47 「口内炎疼痛に対する精油成分リナロールの鎮痛効果」

飯田 理人¹、人見 涼露²、岩田 幸一²、溝口 尚子¹、政井 桜子¹、守永 琢磨¹、篠田 雅路²、村本 和世¹(¹ 明海大 歯 形態機能成育 生理、² 日大 歯 生理)

近年リナロールによる鎮痛作用が報告されているが、口腔顔面領域の疼痛に対する機序の解明は不十分である。本研究は口内炎疼痛に対するリナロール香気の鎮痛効果の発症機構の一端を解明することを目的とした。50%酢酸を浸したろ紙を雌雄ラット下顎口腔前庭部に30秒間貼付し、口内炎を作製した。アクリル製

ボックス内で1%リナロールを5分間曝露させた。曝露30分後に自発痛の指標となる自発ラビング時間を測定した。嗅球または青斑核にそれぞれ2%リドカインまたはオレキシン受容体拮抗薬を投与した後の自発ラビング時間を計測した。三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) ニューロンおよび青斑核ニューロンにおけるc-Fos発

現を免疫組織化学的に解析した。口内炎惹起後に延長した自発ラビング時間はリナロールの曝露により抑制された。この抑制は嗅球へのリドカイン投与により阻害された。また、Vcにおけるc-Fos陽性ニューロン数は口内炎惹起により増加したが、リナロール曝露によってその数は減少した。一方で、青斑核におけるc-Fos陽性ニューロン数はリナロール曝露によって増

加し、リナロールによる自発ラビング時間の延長の抑制はオレキシン受容体拮抗薬投与により阻害された。以上より、リナロール香気は嗅球-青斑核のオレキシンニューロンを介してVc侵害受容ニューロンの興奮性増強を抑制し、口内炎疼痛に対して鎮痛効果を発揮する可能性が示された。

P2-48 「正常咬合支持の回復によるアルツハイマー型認知症発症の危険因子発現の抑制効果」

前芝 宗尚^{1,2}、鍛冶屋 浩^{2,3}、関 貴良史^{1,2}、後藤 加寿子⁴、河野 祐里²、
藤田 亜美³、都築 尊¹

(¹ 福歯大 有床義歯、² 福歯大 口腔医学研究セ、³ 福歯大 細胞生理、⁴ 福歯大 歯科衛生)

【目的】近年、歯周疾患が認知能の低下を増悪させるとの報告がある。我々は、咬合不調和における過剰咬合も認知能の低下が誘導されることを報告してきた。また、歯の喪失は認知能の低下と共に、社会性や口腔健康QOLなどの口腔機能障害との関連も報告されている。正常な咬合支持の回復が認知能低下の危険因子を低減することは知られているものの、そのメカニズムについては未だ明らかではない。本実験は、アルツハイマー型認知病(AD)モデルマウスを用い、歯の喪失、正常咬合支持の回復と認知能力維持との相関を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】実験は、ADモデルマウス(C57BL/6-App(tm3(NL-G-F))); AppKI(3)) およびそのコントロールマウス(C57BL/6-App(tm1(NL)); AppKI(1)) を用い

た。これらのモデルマウスを、コントロール群、上顎3臼歯抜歯1ヶ月後群、抜歯1ヶ月後正常咬合支持回復群の3群に分けた。マウス脳標本を用いてAD誘発関連分子の発現を評価し、また認知能を行動試験にて評価した。

【結果と考察】AppKI(1)とAppKI(3)マウスでは、抜歯後2と4ヶ月で認知能力が低下した。しかしAppKI(3)マウスでは、正常な咬合支持を回復させることで、抜歯によるAD誘発関連分子の発現増加が抑制された。これらの結果は、抜歯により誘導された神経変性が海馬におけるAD誘発関連分子の発現を増加させ、正常咬合支持の回復によりこれら危険因子を抑制することが示唆される。

P2-49 「舌運動方向と線条体マトリックス神経活動の関係」

吉澤 知彦¹、木本 大視^{1,2}、石丸 佑太^{1,2}、乾 賢¹、船橋 誠¹

(¹ 北大 院歯 口腔生理、² 北大 院歯 小児障害者)

大脳基底核の線条体はマトリックスとストリオソームの2種類の区画から構成される。我々は最近、マトリックスの神経活動が舌の側方突出運動に先行して亢進することを発見したが、この活動亢進が側方運動時特有の現象であるか不明であった。そこで本研究では、舌運動と連関するマトリックス神経活動には方向特異性があるという仮説を証明することを目的とした。マトリックス神経細胞特異的に遺伝子組換え酵素Creが発現する遺伝子改変マウスCalb1-IRES-Cre (n = 5) に対して、線条体背内側部にAAV5. CAG. Flex. GCaMP6fを微量注入後、同部に刺入した光ファイバーと頭部拘束具を頭蓋骨に固定した。3週間後、行動実験装置にマウスの頭部を固定し、正面のLED点灯中にマウスが

口元の水スパウトへ舌を突出するとスクロース水を与えるオペラント条件づけを行った。スパウトがマウス顔面の正中にある場合(正中条件)と、側方にある場合(側方条件)において、マトリックス神経活動由来のGCaMP6f蛍光を計測した。正中条件では、マウスは前方に舌を突出してスパウトからスクロース水を摂取し、側方条件では、側方のスパウトに向けて舌を突出して水を摂取した。舌突出運動に先行するマトリックス神経活動の亢進は正中条件では観察されず、側方条件でのみ観察された。これらの結果は、マトリックス神経活動の舌側方運動に対する方向特異性を示唆している。

P2-50 「マウス咬筋活動に対する延髄腹内側に存在するグリシンニューロンの影響」

松井 美南^{1,2}、望月 文子¹、中山 希世美¹、壇辻 昌典¹、笹 清人¹、中村 史朗¹
 (1 昭医大 歯 口腔生理、2 昭医大 歯 口外 顎顔面口外)

【目的】延髄腹内側(VMM)には抑制性神経伝達物質を放出するグリシン作動性ニューロン(Gly)が存在し、脊髄の運動ニューロンへ軸索を投射して筋活動の調節に関与する。一方、VMMのGly(VMM-Gly)は三叉神経運動核にも投射しているが、その影響は不明である。そこで本研究では咬筋活動に対するVMM-Glyの影響を検討した。

【方法】VMM-Glyを抑制するため、破傷風毒素(TeNTLC)をCre依存的に発現するAAV(TeNTLC群)をGlyT2-CreマウスのVMMに投与し、対称群にはコントロールAAVを投与した。投与後、生体電気信号(脳波、眼電図、頸筋および咬筋筋電図)の記録用電極を留置した。回復・馴化期を経て生体電気信号を24時間記録した。記録は、

覚醒(W)、ノンレム睡眠(NREM)、レム睡眠(REM)に分類し、6時間毎に分けて解析した。頸筋および咬筋の筋活動は4秒エポック毎の積分値で求め、Wの筋活動量の平均値を100%として正規化し評価した。

【結果・考察】対称群と比較して、TeNTLC群の各ステージの時間はWは増加し、NREMおよびREMは減少した。TeNTLC群の頸筋の平均筋活動量は、暗期のNREMおよびすべての時間帯のREMで有意に増加し、咬筋の平均筋活動量は、すべての時間帯のNREMおよび明期のREMで有意に増加した。以上の結果から、VMM-Glyは頸筋と咬筋の筋活動に対して異なる影響を及ぼす可能性が示唆された。

P2-51 「ロテノンによる急性腸管平滑筋収縮抑制と神経細胞毒性の相関の検討」

川口 高德¹、早川 和宏¹、松下 歩夢¹、佐藤 元¹、安達 一典¹
 (1 明海大 歯 薬理)

【目的】パーキンソン病(PD)患者は、運動症状の前駆症状として早期から消化管障害を呈する。そのためPDにおける消化管障害の解析は、早期診断への応用が期待される。農薬ロテノンはPDモデル作成に有用であるが、ロテノンによる消化管障害における知見は乏しい。本研究では、マウス腸管における急性の収縮抑制効果を検討し、さらにPC12細胞を用いた神経細胞毒性および細胞内ATP濃度への影響を評価した。

【方法】マグヌス法を用いて、12-16週齢の雄C57BL/6Jマウスにおけるアセチルコリン誘導性の腸管(十二指腸中間部から回腸部)収縮に対し、ロテノン(10^{-8} - 10^{-4} M)の収縮抑制効果を評価した。また、PC12細胞において、WST-8を用いた神経細胞生存率および化学発光を利用

した細胞内ATP濃度測定を行った。

【結果】アセチルコリン誘発性腸管収縮に対し、ロテノン前処理は用量依存的な収縮抑制効果を示した(IC_{50} : 3.1×10^{-6} M)。PC12細胞における細胞生存率について、ロテノン1時間処理では 10^{-4} Mで86.5%であったが、24時間では用量依存的な細胞死が見られ、そのLD50は 3.0×10^{-5} Mであった。細胞内ATP濃度に関して、ロテノン1時間処理では 10^{-4} Mで対照群の74%の濃度を維持していたが、24時間では用量依存的に減少し、 1.0×10^{-6} Mで50%減少した。

【考察】ロテノンは神経細胞での用量依存的な細胞内ATP濃度の低下と神経毒性を誘発し、消化管障害において重要な役割を果たす可能性が示唆される。

P2-52 「ティラピア咽頭顎骨内の破骨細胞と神経の局在について」

井村 幸介¹、船越 健悟¹
 (1 横浜市大 医 神経解剖)

演者らは、ティラピア咽頭顎骨内において、末梢神経の免疫染色(acetylated tubulin)と、破骨細胞(OC)を酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ染色で二重染色した結果、神経終末とOCが近接することを報告した(Imura *et al.*, 2024)。この他に、神経線維に近接する複数のOCも観察された。この結果は魚類の末梢神経系

が、骨リモデリングに重要な役割を担う可能性があることを示す。骨内の神経終末とOCの近接は哺乳類では知られており、骨リモデリングに関与することが報告されている(Hara-Irie *et al.*, 1996)。咽頭顎骨に分布する神経線維束は、髄腔内を走行した後に分枝を形成して咽頭歯に分布する。しかしながら、その過程で

神経線維束とOCの分布がどのように構築されているのか、その局所対応性の詳細は明らかでない。今回、演者らは連続切片を作成して神経束が咽頭歯に至るまでに、OCとどのような分布パターンを示すのかを二重染色によって観察した。リモデリングが行われていると思われる歯足骨領域に、OCが多数局在しており神経終末と神経線維に近接していることが観察された。また

同神経線維束を髓腔方向へ追跡すると神経線維の間にOCが分布している場合も観察された。従って髓腔から咽頭歯に向かう神経線維束の走行に沿ってOCが局在することがみとめられた。これは、神経系が咀嚼時の感覚を担い、リモデリングにも何らかの影響を与える可能性を示しているのかもしれない。

P2-53 「代償性に分布する正中動脈の多様性」

Sayako Suzuki¹、森田 真一¹、松永 智¹、石束 叡¹、廣内 英智¹、田中 智人¹、楊 天意¹、宮本 依利¹、関谷 凌¹、阿部 伸一¹
(¹ 東歯大 解剖)

【目的】正中動脈(MA)は妊娠初期に発生し、橈骨動脈と尺骨動脈が発生するにつれて消失すると報告されている。一方で成人におけるMA残存は近年増加傾向にあるとされるが、報告が少なく不明な点が多い。本研究では日本人成人におけるMAの遺残、型別および吻合先を調査した。

【方法】試料として、東京歯科大学解剖学講座所蔵の実習用遺体24体48側を用いた。浅掌動脈弓と深掌動脈弓、及びMAを前腕遠位にて剖出し、次いで肘窩にてMAの起始を剖出した。肘窩にて尺骨動脈由来の枝として起始し、その後正中神経に伴走する動脈をMAとした。MAの型は手根管を通過し手掌の栄養に関与していたものを手掌型、手根管を通過し母指球筋上で浅掌枝に吻

合していたものを母指球枝、手根管を通過しないものを前腕型として記録した。

【結果】MAの残存は79.1%、手掌型14.5%、浅掌動脈弓に吻合する例が4側、橈骨動脈に吻合する例が3側、前腕型52.0%、母指球型12.5%であった。橈骨動脈と遠位で吻合する割合は56.2%、浅掌動脈弓に吻合する割合は8.0%だった。

【考察】浅掌動脈弓の主構成要素は、十分な太さを有する尺骨動脈であった。一方で、橈骨動脈は浅掌動脈弓の橈側において十分な太さが確保できず、梗塞や外傷などに対して脆弱であった。MAは、手掌部またはその近位において尺骨動脈と橈骨動脈が形成するアーチを補強する役割を担う可能性が示唆された。

P2-54 「マウス胎仔の二次口蓋上皮における硬さの部位特異的な違い」

長坂 新¹、坂東 康彦¹、藤井 みゆき¹、小野澤 豪^{1,2}、鈴木 海登^{1,2}、天野 修¹
(¹ 明海大 歯 組織、² 明海大 歯 口腔顎顔面外科)

哺乳類の二次口蓋は口蓋突起の伸長、挙上、癒合といった複雑な形成過程を経て完成する。口蓋突起の挙上は鉛直方向に伸びる口蓋突起が水平方向へと持ち上がる現象であり、マウス胎仔の口蓋挙上は胎生13.5日目から14日目にかけて生じる。挙上の原動力に物理的・力学的な要因が関与することが示唆されている。本研究では、口蓋挙上時の組織の物理的特性を定量的に解析することを目的とした。挙上前後における違いを捉えるため、胎生13.5日目と14日目のマウス胎仔の口蓋突起上皮に着目した。計測部位はanterior部(臼歯歯胚より前方、A部)、posterior部(臼歯歯胚より後方、P部)の2部位、さらにそれぞれの舌側と頬側とした。原

子間力顕微鏡を用いて弾性率(硬さ)計測を行い、さらに上皮細胞の数と厚さを調べた。弾性率は、挙上前のA部では舌側・頬側で差がなく、P部では頬側の方がより値が大きかった。挙上後はA部、P部ともに舌側と頬側に差はなかったが、挙上前に比べて値が大きかった。この原因を明らかにするため、増殖細胞とアポトーシス細胞の数を計測したところ、各部位で有意な差はなかった。さらに上皮細胞の厚さを計測したところ、挙上前のP部では頬側の方が厚く、A・P部ともに挙上前よりも挙上後の方が厚かった。以上から、口蓋突起の上皮の硬さは上皮を構成する細胞数の影響は小さく、個々の細胞の厚さが影響することが示唆された。

P2-55 「アレンドロネートは環状グアノシンーリン酸-アデノシンーリン酸シターゼ (cGAS) の発現増強を介してリピドAが誘導するインターフェロン β の放出を増加する」

玉井 利代子¹、清浦 有祐¹

(¹ 奥羽大 歯 口腔病態解析制御)

窒素含有ビスフォスフォネートの1種であるアレンドロネート(ALN)は、Toll様受容体(TLR)2リガンドまたはTLR4リガンドが誘導するマウスマクロファージ様細胞の炎症性サイトカイン産生を増加する。本研究では、ALNが抗ウイルス活性を有するインターフェロン(IFN)- β の産生を増加するか調べた。その結果、ALNによる前処理は、J774.1細胞のリピドAが誘導するIFN- β 産生と核内のインターフェロン調節因子(IRF)-5の発現を有意に増加した。さらに、ALN処理によって、同細胞の環状グアノシンーリン酸-アデノシンーリン酸合成酵素(cGAS)、レチノイン酸誘導遺伝子-I(RIG-I)、

およびドッキングタンパク質3(DOK3)の発現が増強した。cGAS抑制剤RU.521でJ774.1細胞を前処理すると、ALNが増加したIFN- β の産生、IRF-5の発現増強、およびcaspase-11の発現が抑制された。また、RIG-IアンタゴニストであるRIG012はJ774.1細胞の、ALNが増加したリピドA誘導IFN- β 産生を抑制した。さらに、ALNとリピドAは、同細胞のNur77発現を増強した。以上の結果は、ALNで前処理するとcGAS発現の増強を介して、J774.1細胞のリピドAが誘導するIFN- β 産生が増加することを示唆する。